

は少ない。そこで本研究では、冬期成熟型の胎生魚であるメバル *Sebastes inermis* とカサゴ *Sebastiscus marmoratus* の生殖腺発達に及ぼす水温と日長の影響を調べた。

【方法】 実験 1) 2002 年 6 月から 9 月にかけてメバルを水温 13℃ (13℃ 区) 及び水温 23℃ (23℃ 区) の一定条件で飼育した。また、日長は自然日長とした。実験 2) カサゴを 2002 年 10 月から 2003 年 1 月にかけて実験 1) と同様の条件で飼育した。実験 3) 2003 年 6 月にメバルを 28℃ の高水温下にて 12 日間飼育した後、水温を 24℃ まで低下させ、その後 11 月まで水温 24℃ (24℃ 区) 一定、水温 24℃ で 1 カ月飼育後 17℃ (24℃ → 17℃ 区) 一定、水温 17℃ (17℃ 区) 一定条件 (いずれも自然日長) で飼育した。また同様の高水温飼育をした後、水温 24℃ 日長 11L (24℃ 短日区) での飼育も行った。上記の実験 1) から 3) の全てにおいて、長崎県総合水産試験場海面イケスで飼育した群を自然水温区として加えた。実験開始より 1 ヶ月毎に生殖腺を採取し、生殖腺体指数 (GSI) の算出及び組織観察を行った。

【結果】 実験 1) 実験魚は、全ての区で雄雌とも実験終了までに成熟には至らず、GSI の変化及び生殖腺の発達に、実験区による違いも認められなかった。実験 2) 雄は全ての区で最終成熟に至ったものの、GSI はいずれの月も自然水温区が最も高い値を示した。雌は自然水温区のみ最終成熟に至り、それ以外の区では GSI も低値のままであった。このことよりカサゴでは、適水温を越える水温の低下は成熟に抑制的に働くことが明らかとなった。実験 3) 雄の GSI は 24℃ 短日区、24℃ → 17℃ 区及び 17℃ 区において、実験期間中緩やかに増加を続けた。またそれら 3 区では、設定水温への移行から 1 ヶ月後の 8 月に精子形成期及び排精期の個体が現れた。雌の GSI は 11 月に 24℃ 短日区において 17℃ 区を除く他の 3 区に比べ高値を示した他は、いずれの月も実験区による違いは見られず、また生殖腺の発達段階にも差はなかった。以上の結果より、メバル雄は高水温経験後、下降する水温の影響を受けて成熟を開始することがわかった。またその進行には、17℃ 前後の低水温あるいは日長 11L 前後の短日のいずれかが必要であると思われる。加えて、雌における生殖腺の発達開始は、雄に比べ外部環境の影響を受けやすいと考えられる。

魚類の生殖腺刺激ホルモン ―その構造と機能―

(独)水産総合研究センター・養殖研究所 玄 浩一郎

魚類の性成熟は視床下部―脳下垂体―生殖腺系で調節されており、特に脳下垂体で合成・分泌される生殖腺刺激ホルモン (GTH) は生殖腺の発達や配偶子形成を直接支配する。このため GTH に関する基礎的知見の集積は、養殖対象魚種の安定的かつ効率

的な種苗生産を合理的に進める上で重要である。しかしながら、魚類GTHの合成機構やその作用機序については不明な点が多い。今回はこれまで演者らが行ってきた魚類GTHの構造と機能に関する基礎的研究とそこから得られた知見をもとに開発した組換えGTHの合成系について紹介したい。

1. GTHの分子構造

GTHは糖タンパク質ホルモンであり、哺乳類同様、魚類においても2種類のGTH (FSHならびにLH) が存在する。両GTHは α と β の会合体からなり、 α が共通であるのに対して β はそれぞれのホルモンで異なる。これまで複数の養殖対象魚種のGTHサブユニットcDNAの単離・同定を行ったところ、各サブユニットの基本的な構造が魚種間で良く保存されていることが判明した。しかしながら、分子進化解析によってLH β と比較してFSH β は進化速度の速い分子であることが明らかとなり、FSHの機能が種によって多様化している可能性が推測された。

2. GTHの機能

マダイの性成熟に伴うGTHサブユニットの発現動態を解析した結果、FSH β は雄では生殖腺の発達に伴って発現量が増加するが、雌では性成熟過程全般を通じてその値は低く変化に乏しいことが明らかとなった。一方LH β は、雌雄ともに性成熟初期から産卵期まで高値を維持し、産卵期終了後に減少した。生殖腺の生体外培養系を用いたステロイドホルモン合成実験によって、雄では2種類のGTHが雄性ホルモン（11-ケトテストステロン）の産生において同等の活性能を有することが明らかとなった。他方、非常に興味深いことに、雌では雌性ホルモン（エストラジオール-17 β ）の産生能がFSHよりもLHの方が高く、FSHは卵の最終成熟を誘起しなかった。以上の結果より、雄マダイではFSHが精子形成に関与するだけでなく精子の最終成熟に関与していること、LHが排精だけでなく精子形成にも何らかの作用を及ぼしている可能性が推測された。また、雌マダイではサケ科魚類とは大きく異なり、LHが最終成熟のみならず卵黄形成にも深く関与しているのに対して、FSHが明確な生理機能を持たない可能性が強く示唆された。

3. 遺伝子工学的手法を用いたGTHの生合成系の開発

近年、遺伝子工学的手法の飛躍的な進歩により魚類GTHの人工合成が可能となった。しかしながら、合成したホルモンを評価する上で必要不可欠なGTHの生理機能に関する知見が極めて乏しいため生合成系の開発にあたって大きな障害となっている。このため我々はバキュロウイルス発現系を用いて組換えマダイGTHの生合成を行うとともに、これまで得られた知見をもとにその生物学的特性について解析を行った。その結果、カイコ幼虫で合成した各GTHサブユニットが体液中に生理活性をもつ会合体として分泌されていることが明らかとなった。さらに、マダイ精巣片を用いたin vitroの解析の結果、組換えマダイFSHならびにLHが、天然のGTHと同等の11-ケトテストステロンの産生能を持つことが判明した。